



Szent István Egyetem

**HÍMIVARSEJTEK ÉS KORAI IVARSZERV-SZÖVETEK
MÉLYHŰTÉSES TARTÓSÍTÁSÁNAK FEJLESZTÉSE
BAROMFIFAJOKBAN GÉNMEGŐRZÉSI CÉLOKBÓL**

Doktori értekezés tézisei

VÁRADI ÉVA

Gödöllő

2016

A doktori iskola

megnevezése: Állattenyésztés-tudományi Doktori Iskola

tudományága: Állattenyésztés-tudomány

vezetője: Dr. Mézes Miklós
egyetemi tanár, az MTA doktora
SZIE, Mezőgazdasági- és Környezettudományi Kar
Állattudományi Alapok Intézet, Takarmányozástani Tanszék

Témavezető: Dr. Barna Judit
tudományos főmunkatárs, címzetes egyetemi tanár
Haszonállat-génmegőrzési Központ
Genetikai és Szaporodásbiológiai Kutatócsoport

.....
Az iskolavezető jóváhagyása

.....
A témavezető jóváhagyása

1. A MUNKA ELŐZMÉNYEI, A KITŰZÖTT CÉLOK

1.1. Bevezetés, a téma jelentősége

Földünk globális problémái közül a biodiverzitás megőrzése kiemelt fontosságú, azonban a gazdasági haszonállataink genetikai sokszínűségének megőrzését a folyamatosan jelen lévő élelmiszerhiány nehezíti. Emiatt háttérbe szorulnak az őshonos baromfifajok is, melyek genetikai erőforrása adná a változatosság bázisát, amely lehetővé tenné a helyi környezethez alkalmazkodó új fajták létrehozását.

A génmegőrzés és a biodiverzitás fontosságának előtérbe kerülése genom- és adatbankok létrehozását és fejlődését vonta maga után, melyeknek három fajtáját különböztetjük meg: (1) Az *in situ* génbankokban az eredeti tartózkodási helyükön kisebb-nagyobb állományokban, (2) míg az *ex situ in vivo* génbankokban erre a célra kialakított farmokon, nukleusz populációkban tartják fent és tenyésztik az őshonos fajtákat. Mivel ezek az állományok számos veszélynek vannak kitéve a biztonságos génmegőrzés érdekében (3) *ex situ in vitro* génbankok kialakítása is szükséges, ahol az ezen állományokból származó ritka, értékes genetikai anyagot hordozó hím- és női ivarsejteket, embriókat, embrionális sejteket, illetve szöveteket, vagy korai ivarszervszöveteket, valamint DNS mintákat mélyhűtött állapotban, hosszútávon őrzik.

Az *in vitro* génmegőrzés legpraktikusabb módja jelenleg - madarak esetében - az ondó mélyhűtéses tartósítása. Mivel madaragnál a nőivar a heterogametikus szex (ZW), a spermiumok mélyhűtésével csak a hím genomot (ZZ) tudjuk megőrizni. Bár hat-nyolc generációs visszakeresztezésekkel majdnem 100 %-ban visszanyerhető az eredeti genotípus, emellett szükséges új, alternatív módszerek kidolgozása a teljes genom fenntartása érdekében. A petesejtek mélyhűtésével megőrizhető lenne a W kromoszóma, azonban a megalecitális tojás biofizikai sajátosságai miatt ez az eljárás madarak esetében nem alkalmazható. A korai embrionális sejtek (blasztodermális sejtek, primordiális őscsírasejtek) felhasználásával történő kiméra előállítás megoldást jelenthet a teljes genetikai anyag megőrzésére. Azonban mivel ezen eljárások kevésbé hatékonyak és meglehetősen költségesek, így génmegőrzési programokban való alkalmazásuk egyelőre nem elterjedt. A nőivar genetikai állományának megőrzésére megoldást jelenthet a naposkori petefészekszövet mélyhűtése, majd az így konzervált ivarszerv recipiens állatokba való beültetése. A módszer génmegőrzési programokban való alkalmazásához azonban még várat magára egy hatékony, egyszerűen alkalmazható mélyhűtési és transzplantációs eljárás kidolgozása. Ezek a vizsgálatok több kutató-laboratóriumban folyamatban vannak, többek között intézetünkben is.

A Haszonállat-génmegőrzési Központban (HáGK) évtizedek óta meglévő *ex situ in vivo* génbank mellett a Baromfi Szaporodásbiológiai Laboratóriumban 2014 óta fejlesztés alatt áll egy *in vitro* génbank is, melyben az őshonos magyar baromfifajták ondómintáinak mélyhűtéses betárolása pillanatnyilag is folyik.

1.2. Célkitűzések

1. Kutatásaim célja olyan fajspecifikus ondómélyhűtési eljárások kidolgozása, amelyek a gyakorlatban egyszerűbben, kevesebb beruházással, környezetkímélőbb módon, mégis hatékonyan alkalmazhatók. Vizsgálataim célja a *házi tyúk*, *gyöngytyúk*, illetve *házi lúd spermiumok* programozott mélyhűtési eljárással és ultragyors technikákkal - pellet-módszer és nitrogéngőzben történő mélyhűtés - történő tartósításának összehasonlítása és fejlesztése, törekedve az egyes fajok számára gyakorlati szempontból legideálisabb protokollok kidolgozására.
2. Munkám célja másrészt a házi tyúk *korai ivarszerv-szöveinek* ultragyors technikákkal - nitrogéngőzben történő mélyhűtés, pellet-módszer, illetve vitrifikációs eljárás - történő mélyhűtése, valamint a protokollok eredményességének *in vitro* - szövettani és szövettenyésztési - eljárásokkal történő összehasonlítása.

2. ANYAG ÉS MÓDSZER

2.1. Ondómélyhűtési kísérletek házityúk-fajban

Kísérletünkben a standard glicerolos, programozott mélyhűtés és pellet-módszer-hatékonyosságát *in vitro* és *in vivo* is értékeltük.

Vizsgálatainkhoz húsz egyéves fogolyszínű magyar kakast helyeztünk el egyedi ketrecekben. Az ondóvétel *Burrows és Quinn dorso-abdominális* masszázstechnikájával történt heti 2 alkalommal, 2 hónapon keresztül. Az *in vitro* vizsgálatokra, azaz az ondó minősítésére minden esetben két alkalommal - a mélyhűtés előtt (friss minta), ill. a felengedés után (mélyhűtött/felengedett minta) - került sor. A minősítés során meghatároztuk a klasszikus spermológiai paramétereket (mennyiség, motilitás, koncentráció, morfológiai rendellenességek és élő/holt sejtarány).

A kétféle mélyhűtési eljárások eredményességét *in vivo* - mesterséges termékenyítéssel - is teszteltük. Három kísérleti csoportot alakítottunk ki, a mesterséges termékenyítéseket a spermadonor kakasoktól származó friss, hígított ondóval (kontroll csoport) és mélyhűtött/felolvasztott (lassú mélyhűtés, ill. pellet-módszer) ondóval végeztük az első héten 3 alkalommal, majd hetente kétszer, 3 héten keresztül. A keltetőbe hetente berakott tojások termékenységét lámpázással ellenőriztük az inkubáció 7. napján. A kilámpázott tojások vizsgálata során meghatároztuk a terméketlen, a nagyon korai, még a petevezetőben történő és az inkubációs (keltetés alatt történő) embrióelhalások, valamint a normális fejlődésű embriók arányát.

2.2. Ondómélyhűtési kísérletek gyöngytyúk-fajban

Honosult baromfifajunk ondómélyhűtési kísérletei során 4 protokollt - lassú- és gyors programozott mélyhűtés, nitrogéngőzös eljárás és pellet-módszer - teszteltünk a leghatékonyabb eljárás kidolgozása érdekében. Emellett három krioprotektáns (10% EG, 6% DMF, 6% DMA) hatékonyságát is vizsgáltuk.

Vizsgálatainkhoz harminc egyéves magyar parlagi gyöngytyúk kakast helyeztünk el egyedi ketrecekben. Az ondóvétel és az ondó minősítése a házityúk-fajnál leírtak szerint történt.

A mélyhűtött/felolvasztott ondóminták minősítése alapján a két legeredményesebbnek bizonyult mélyhűtési protokoll hatékonyságát mesterséges termékenyítéssel is teszteltük. Tíz gyöngytyúkot kontrollként friss, hígított ondóval, tízet 10% EG-t tartalmazó lassú eljárásból származó mélyhűtött/felolvasztott mintával, tízet pedig a pellet-módszerrel

mélyhűtött/felolvasztott ondóval termékenyítettünk hetente 3 alkalommal 3 héten keresztül. A keltetőbe hetente berakott tojások termékenységének ellenőrzése és a kilámpázott tojások vizsgálata a háziyúk-fajnál korábban leírtak szerint történt.

2.3. Ondómélyhűtési kísérletek házilúd-fajban

A gúnárondő mélyhűtése során egy - már ismert - programozott mélyhűtés módosított változatát és egy saját fejlesztésű nitrogéngőzös eljárást hasonlítottuk össze *in vitro*. A kísérletet kiegészítettük különböző nem permeábilis ozmoprotektív anyagok (betain, trehalóz, szacharóz) tesztelésével.

Vizsgálatainkhoz harminc szürke landesi gúnarat a tavaszi termelési ciklusuk kezdetén egyedi ketrecekben helyeztünk el. Az ondóvétel és a spermatológiai paraméterek vizsgálata a háziyúk-fajnál leírtak szerint történt. Az ondókezelés után elvégzett mindkét mélyhűtési - programozott és nitrogéngőzös - eljárásnál 4-4 különböző krio-, illetve ozmoprotektáns (DMF kétféle koncentrációban, betain, trehalóz-szacharóz kombináció) alkalmaztunk.

A mélyhűtött/felolvasztott ondóminták minősítése alapján a legeredményesebbnek bizonyult mélyhűtési protokoll hatékonyságát mesterséges termékenyítéssel is teszteltük. 20 tojót friss, hígított ondóval 20-at pedig a nitrogéngőzös eljárással mélyhűtött/felolvasztott mintával termékenyítettünk. A mesterséges termékenyítést hetente 2 alkalommal végeztük, 3 héten keresztül. A keltetőbe hetente berakott tojások termékenységének ellenőrzése és a kilámpázott tojások vizsgálata a háziyúk-fajnál korábban leírtak szerint történt.

2.4. A korai ivarszerv szövetek mélyhűtési kísérletei

A korai ivarszervek tartósítására különböző ultragyors mélyhűtési eljárásokat teszteltünk. A nitrogéngőzben, kriocsőben történő eljárás mellett vizsgáltuk a pellet-módszer és egy speciális vitrifikációs technika (akupunktúrás tűs módszer) hatékonyságát. Olyan mélyhűtési eljárás kidolgozását céloztuk, mely a későbbiekben lehetővé teszi a mélyhűtött ivarszerv beültetését, így segítve a nőivar bevonását a génmegőrzési programokba.

Ivarszervdonornak autosex Tetra SL naposcsibéket használtunk. Az eltávolított ivarszerveket mélyhűtésig (10-40 perc) steril DMEM (Dulbecco's Modified Eagle's Medium) oldatot tartalmazó Petri-csészében tároltuk 0°C-on. A mélyhűtött ivarszervek épségét szövettani és szövettenyésztési vizsgálatokkal ellenőriztük.

3. EREDMÉNYEK

3.1. Ondómélyhűtési kísérletek házityúk-fajban

A két mélyhűtési eljárás között a vizsgált paraméterekben szignifikáns különbség nem volt kimutatható. A mélyhűtést/felolvasztást követő spermiumminőséget vizsgálva azt tapasztaltuk, hogy a lassú mélyhűtési procedúrát követően az élő sejtarány 12,7%, míg a pellet módszer esetében 14,1% volt, emellett az élő, normális morfológiájú spermiumok aránya 8,1%-ot ill. 10,6%-ot ért el. Az élő, normális morfológiájú spermiumok túlélési aránya 9,3% (lassú, programozott) és 12% (pellet-módszer) volt.

A fentiekhez hasonlóan a termékenyítőképesség vizsgálatakor sem találtunk szignifikáns különbséget a kétféle módon mélyhűtött kísérleti csoport között. A friss ondóval történő termékenyítés esetén mért 88,8% termékenységhez képest a lassú mélyhűtésből származó mintákkal történő termékenyítést követően 32,2%, míg a pellet módszer esetében 44,2%-os termékenységet értünk el. Korábbi vizsgálatainkhoz hasonlóan szoros korrelációt tapasztaltunk az inszeminált élő, normális morfológiájú spermiumok száma és a normális fejlődésű embriók aránya között. A kontrollként friss ondóval termékenyített csoportból származó tojások 82,3%-ban mutattak normális embriófejlődést lámpázáskor, míg a pellet módszerrel mélyhűtött/felolvasztott mintákkal történő termékenyítéseket követően ez az érték 22,6% volt, szignifikánsan ($p \leq 0,05$) magasabb a lassú mélyhűtési csoport tojásaiban talált normál fejlődésű embriók arányához képest (14,1%).

3.2. Ondómélyhűtési kísérletek gyöngytyúkfajban

A mélyhűtést/felolvasztást követő spermiumminőséget vizsgálva megállapítottuk, hogy a nitrogéngőzös eljárást (16,8%-EG ill. 14,8%-DMF), valamint a gyors programozott protokollokat (24,5%-EG ill. 21,7%-DMF) követően volt legalacsonyabb az élő ondósejtek aránya. Az élő sejtek aránya a pellet-módszer (31,4%) és a 10% EG-t alkalmazó lassú programozott protokoll (41%) esetében volt a legmagasabb. Annak ellenére, hogy ez utóbbi módszer eredményezte a legtöbb összes élő sejtet, szignifikánsan ($p \leq 0,05$) több rendellenes spermiumot produkált (23 vs. 10%), mint a pellet-módszer. Így a legnagyobb élő, normális morfológiájú spermium arányt (21%) a pellet-módszernél találtuk.

A rendellenesség típusok vizsgálata során azt tapasztaltuk, hogy a DMF minden hűtési sebesség esetében szignifikánsan több ($p \leq 0,01$) akroszóma-rendellenességeket produkált. A pellet-módszer a feji rendellenességek tekintetében szignifikánsan a legmagasabb, míg a farok

rendellenességek esetében a legalacsonyabb előfordulást eredményezte ($p \leq 0,01$), jöllehet, az összes protokollhoz képest a legkisebb arányban itt fordultak elő rendellenes sejtek. A spermiumok a 10% EG-t tartalmazó lassú, programozott és a pellet-módszer esetében produkáltak a legmagasabb túlélést az élő normális morfológiájú sejtekre vonatkoztatva (23,5 és 28,6%). Utóbbival szignifikánsan jobb ($p \leq 0,05$) túlélési arányt értünk el.

A két eredményesebb mélyhűtési protokollból származó mintákkal, valamint friss, hígított ondóval 3 gyöngytyúk-csoportban végeztük a termékenyítéseket. A háromhetes termékenyítési időszak végére a friss, hígított ondóval 91,7%-os, a lassú programozott protokollal mélyhűtött ondóval 29,1%-os, míg a pellet-módszerrel mélyhűtött spermiumokkal 63,6%-os termékenységet értünk el. A petevezetőben történő embrióelhalások a mélyhűtött ondóval történt termékenyítések után szignifikánsan ($p \leq 0,05$) magasabb arányban mutatkoztak a kontroll csoport tojásaihoz képest.

3.3. Ondómélyhűtési kísérletek házilúd-fajban

A programozott módszert követően az élő ondósejtek aránya 52,5-59% között volt az egyes protokollokban, míg a nitrogéngőzös eljárás esetében 48,3-54,9% élő sejtarányt tapasztaltunk. A *programozott* eljárásnál, ahol a DMF koncentrációja a legalacsonyabb (7%) volt, szignifikánsan ($p \leq 0,01$) gyengébb volt az élő, normális morfológiájú spermiumok túlélése 2, 3 és 4 protokollokhoz képest (42,6; 47,9; 48,5; 50,3%). A *nitrogéngőzös* módszernél nem tapasztunk szignifikáns különbséget az egyes protokollok spermium-túlélése között (43-46%). Az ozmoprotektánsok nem javították a mélyhűtött gúnár spermiumok túlélését a nitrogéngőzös protokollokban.

Mivel az *in vitro* vizsgálatok alapján nem találtunk szignifikáns különbséget a programozott és a nitrogéngőzös eljárás sejttúlélése között, ezért a gyakorlati tenyésztői munkában egyszerűbben kivitelezhető, 9% DMF-et tartalmazó nitrogéngőzös eljárás (1 protokoll) hatékonyságát teszteltük mesterséges termékenyítéssel. A termékenyítési kísérlet során a mélyhűtött ondóval 58,5%-os, míg a friss, hígított ondóval szignifikánsan ($p \leq 0,01$) magasabb 81,8%-os termékenységet értünk el. A korai, petevezetőben történő embrióelhalások aránya a mélyhűtött ondóval történő termékenyítések (12,8%) esetében szignifikánsan ($p \leq 0,01$) magasabb volt a friss spermás termékenyítésekhez (3,4%) viszonyítva.

3.4. A korai ivarszerv szövetek mélyhűtési kísérletei

A háromféle mélyhűtési módszerrel összesen 104 db petefészkek és 175 db here mélyhűtési tartósítását végeztük el. A szövetek struktúrájának, szerkezeti épségének vizsgálata során összehasonlítottuk az egyes módszerek szerint mélyhűtött korai ivarszervek, illetve a friss (kontroll) naposkori ivarszervek szövettani képét. A három különböző eljárással mélyhűtött naposkori herék szövettani vizsgálata alapján azt tapasztaltuk, hogy a vitrifikációs eljárás őrizte meg leginkább a herék eredeti szerkezetét. A módszer alkalmazása után az interstitium és a herecsatornácskák aránya a friss here szerkezetét mutatta, tehát feltételezhetően működőképes, míg a nitrogéngőzös és a pellet-módszer esetében ez kevésbé mondható el.

A három különböző eljárással mélyhűtött naposkori petefészkek szövettani vizsgálata igazolta, hogy a petefészkek eredeti szerkezete megtartott, még ott is, ahol a veseszövet már láthatóan károsodott.

A szövettenyésztés során - mindhárom protokoll szerint mélyhűtött/felolvasztott-szövetekből fibroblasztok nőttek ki, amely bizonyítja, hogy az ivarszervek túléltek a mélyhűtés/felolvasztás folyamatát.

4. KÖVETKEZTESEK ÉS JAVASLATOK

4.1. Ondómélyhűtési kísérletek

A madarak ondómélyhűtésével kapcsolatos elmúlt 20-30 év kutatásai alapján nyilvánvalóvá vált, hogy *fajspecifikus mélyhűtési protokollokat* kell kidolgozni. Pillanatnyilag a baromfifajok közül csupán a házityúk-faj ondómélyhűtésével kapcsolatban találhatunk ajánlott mélyhűtési protokollt a génbankok kialakítását célzó FAO ajánlásban, ezért fontosnak tartottuk a különböző mélyhűtési eljárások hatékonyságának összehasonlítását.

A *házityúk-fajon* az általunk kidolgozott egyszerűsített és gyors pellet-módszer a klasszikus lassú, programozott eljáráshoz hasonlóan hatékonynak bizonyult, ezért olyan ritka, veszélyeztetett tyúkfajták esetében javasoljuk a módszer alkalmazását, ahol kevesebb egyeddel, illetve kisebb ondómennyiséggel kell számolni, illetve olyan esetekben, amikor nem áll rendelkezésre programozható mélyhűtő-berendezés.

A *gyöngytyúkfaj* ondómélyhűtésével kapcsolatban a spermabanki tárolás céljainak megfelelő mélyhűtési protokoll eddig váratott magára. A termékenyítési kísérletek során a pellet-módszerrel mélyhűtött spermiumokkal a világon elsőként 63,6%-os termékenységet sikerült elérnünk gyöngytyúkfajban, mellyel a génbanki tárolás már megoldható az ilyen kis mennyiségű spermát produkáló faj esetében.

A *gúnárondő* mélyhűtésére elsősorban programozott eljárásokat alkalmaz az ezzel foglalkozó néhány laboratórium. A dolgozatban bemutatott vizsgálatainkban az egyszerűbben és így gazdaságosabban kivitelezhető nitrogéngőzös eljárással közel 60%-os termékenységet sikerült elérni. A génmegőrzési hasznosítás mellett az eljárás a hétköznapi tenyésztői munkába is beilleszthető és hatékonysága nem sokkal marad el a friss, hígított ondóval történő termékenyítések eredményességétől (70-80%). A mélyhűtésnek ez a módszere akár egy állattartó telepen is megvalósítható és nincs szükség drága programozható mélyhűtő berendezésre, ezért ajánljuk a módszer alkalmazását a tenyésztésben, különösen a tenyészállományok előállításánál.

Az elmúlt évek ondómélyhűtésekkel kapcsolatos vizsgálatai alapján megfigyeltük, hogy a nagyon korai, még a petevezetőben történő embrióelhalások a mélyhűtött ondóval történt első néhány termékenyítés után szignifikánsan magasabb arányban mutatkoztak egyrészt a friss spermás termékenyítésekhez képest, másrészt az egyéb korai embrióelhalásokhoz képest. Ennek hátterében az áll, hogy a gyengébb minőségű mélyhűtött/felolvasztott spermiumok közül nem rakódik be elegendő a spermiumtároló tubulusokba, amely a normális embriófejlődéshez szükséges lenne. Ezért javasoljuk, hogy mélyhűtött ondó használata esetén a sikeresség

érdekében az első heti termékenyítéseket gyakran, akár naponta és minél nagyobb spermiummennyiséggel végezzék el.

4.2. Korai ivarszervszövetek mélyhűtési kísérletei

A női genetikai anyag megőrzése a naposkori petefészek szövetek mélyhűtésével és recipiens állatba történő beültetésével valósítható meg. Emellett bizonyos esetekben szükség lehet a hereszövetek mélyhűtési tartósítására is.

Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy a hereszövet vitrifikációs eljárással történő mélyhűtése lehetővé teszi a veszélyeztetett fajok esetében az értékes hímek genetikai állományának megőrzését. Javasoljuk a módszer alkalmazását olyan nagy genetikai értékű hímek esetében, ahol az ondó mélyhűtése valamilyen okból nem kivitelezhető. A naposkori petefészekszövetek esetében mindhárom mélyhűtési eljárás megőrizte a szervek normális szerkezetét. A mélyhűtött ivarszervek épségét szövettani vizsgálatokkal is alátámasztottuk.

Összességében elmondható, hogy az *in vitro* génmegőrzést elősegítő vizsgálataink során hatékony ondómélyhűtési protokollt sikerült kidolgoznunk három baromfifaj (házi tyúk, gyöngytyúk, házi lúd) esetében a spermabanki tárolás és a gyakorlati tenyésztőmunka számára, valamint közelebb kerültünk a női genom megőrzéséhez is a korai petefészekszövetek mélyhűtésének adaptálásával házityúk-fajra.

5. ÚJ TUDOMÁNYOS EREDMÉNYEK

1. Bebizonyítottam, hogy a pellet-módszer a klasszikus lassú, programozott eljáráshoz hasonlóan eredményesen használható fogolyszínű magyar tyúk esetében, ezért alkalmazható olyan ritka, veszélyeztetett őshonos tyúkfajták esetében is ahol kevesebb ondómennyiséggel kell számolni és/vagy nem áll rendelkezésre mélyhűtő berendezés.
2. Elsőként sikerült olyan ondómélyhűtési eljárást kidolgoznom gyöngytyúk spermiumok tartósítására, melynek alkalmazásával 63,6%-os termékenységet sikerült elérni, elősegítve ezzel a faj *in vitro* génmegőrzését.
3. Igazoltam, hogy lúdfaj esetében közel 60%-os termékenység érhető el a laboratóriumunk által gúnárondő mélyhűtésére kifejlesztett nitrogéngőzös eljárással. A mélyhűtési módszerrel tartósított ondóval való inszeminálás megközelítette a friss, hígított ondóval történő mesterséges termékenyítés eredményességét.
4. Megállapítottam, hogy mindhárom baromfifaj esetében a mélyhűtött ondóval való termékenyítések után a nagyon korai, petevezetőben történő embrióelhalások aránya nő meg az összes embrióelhalás közül a friss, hígított ondóval történő inszeminálásokhoz képest.
5. Igazoltam, hogy mindkét ivarban a korai ivarszerv-szövetek mélyhűtésével megőrizhető az ivarszervek szerkezeti épsége, melyet mind a szövettani, mind a szövettenyészési vizsgálatok alátámasztottak.

6. AZ ÉRTEKEZÉS TÉMAKÖRÉBEN MEGJELENT TUDOMÁNYOS PUBLIKÁCIÓK

Referált tudományos folyóiratban megjelent közlemények

- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2012): Ondómélyhűtési vizsgálatok gyöngytyúk fajon. *Magyar Állatorvosok Lapja*. 134: 469-474.
- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2013): Methods for Cryopreservation of Guinea Fowl Sperm. *Plos One*, April 2013 Vol. 8 Issue 4 e62759.
- Liptói, K., Horváth, G., Gál, J., **Váradi, É.**, Barna, J. (2013): Preliminary results of the application of gonadal tissue transfer of various chicken breeds in the poultry gene conservation. *Animal Reproduction Science*, 141: 86-89.

Egyéb lektorált tudományos folyóiratban megjelent közlemények

- Phuong, T.N.L., **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2014): Comparison between slow, programmable freezing and fast freezing protocols of Hungarian guinea fowl spermatozoa. *Athens Journal of Natural and Formal Sciences* 1 (3): 175-183.

Nemzetközi konferencián megjelent közlemények, előadások

- Barna, J., Végi, B. and **Váradi, É.** (2008): Comparison of various freezing protocols of native roosters' semen. *Proc. 16th International Congress on Animal Reproduction. Budapest, Hungary, 13-17 July 2008. Reproduction in Domestic Animals. Vol. 43. Suppl. 3. p.139.*
- Barna, J., Végi, B., **Váradi, É.** and Ferenczi Szöke, Zs. (2009): Gander sperm cryopreservation, a possible tool for gene conservation. *6th Hungarian-Vietnamese Conference, Gödöllő, Hungary, 2-3 July 2009.*
- Barna, J., Végi, B., **Váradi, É.**, Liptói, K. (2010): Comparative study on cryopreservation procedures of gander sperm. *Proc. XIII European Poultry Conference, Tours, France, 23-27 August 2010. World Poultry Science Journal, Vol. 66. Suppl. 508. www.epc2010.org full paper on CD: EISSN number 1743-4777.*
- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K. Barna, J. (2012): Comparison of two cryopreservation protocols of guinea fowl sperm. *Proc. XXIV World's Poultry Congress. Salvador, Brazil. 5-9 August 2012. World's Poultry Science Journal Vol. 68. Suppl. 1. p. 458.*

- **Váradi, É.**, Végi, B., Lévai, T., Liptói, K., Barna, J. (2012): Comparisons of different cryoprotectants and cooling rates with chicken and guinea fowl semen. *CRYOBIRD Symposium Gödöllő, Hungary 5. October 2012*
- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2013): Freezing trials on chicken and guinea fowl semen with low quality. *CRYOBIRD Final Meeting, St-Malo, France, 15-16 October 2013*
- **Váradi, É.**, Liptói, K., Barna, J. (2013): Cryopreservation of gonadal tissues. *CRYOBIRD Final Meeting, St-Malo, France, 15-16 October 2013*
- Barna, J., **Váradi, É.**, Drobnyák Á. (2013): Trials on chicken sperm vitrification. *CRYOBIRD Final Meeting, St-Malo, France, 15-16 October 2013*
- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2013): Studies on deep freezing of domestic and guinea fowl spermatozoa. *International Forum on Avian Germplasm, Seoul, South-Korea, October 25-28, 2013. pp.63.*
- Barna, J., Patakiné Várkonyi, E., Liptói, K., Sztán, N., **Váradi, É.** (2013): Present situation in bio-banking management of indigenous poultry species in Hungary. *International Forum on Avian Germplasm 2013. South-Korea, Seoul, October 25-28, 2013. pp.60-62.*
- **Váradi, É.**, Végi, B., Drobnyák, Á., Zöld, O. Barna, J. (2014): Practical cryopreservation of gander sperm using various combinations of cryo-and osmoprotectants. *Proc. 12th International Symposium on Spermatology. Newcastle, Australia 10-14 August 2014. p.78.*
- **Váradi, É.**, Drobnyák, Á., Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2015): Study on the effect of various combinations of cryoprotectants used in gander sperm freezing. *8th Hungarian-Vietnamese Symposium, 23-27 September 2015, Budapest-Gödöllő, Hungary. p.*

Hazai konferencián megjelent közlemények, előadások

- **Váradi, É.**, Végi, B. Barna, J. (2011): Előzetes vizsgálatok gyöngytyúk spermiumok mélyhűtésére. *III. Gödöllői Állattenyésztési Tudományos Napok, Gödöllő, 2011. október 13-15.*
- **Váradi, É.**, Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2011): Ondómélyhűtési protokollok összehasonlítása gyöngytyúk fajban. *Proc. 17. Szaporodásbiológiai Találkozó. Az állattenyésztés és szaporodásbiológia helye és szerepe a magyar agrárstratégiában. Herceghalom, 2011. október 28-29. p.25.*

- **Váradi, É.**, Barna, J. (2013): Ígéretes és gyakorlatias ondómélyhűtési eljárások a baromfiszaporításban. *Proc. 19. Szaporodásbiológiai Találkozó és 10. Kaposvári Állategészségügyi Nap, Hévíz, 2013. október 11-12.*
- Barna, J., Patakiné Várkonyi, E., Liptói, K., **Váradi, É.**, Sztán, N. (2013): Asszisztált reprodukciós eljárások a baromfi és vadmadarak génmegőrzésének céljából. *Proc. 19. Szaporodásbiológiai Találkozó és 10. Kaposvári Állategészségügyi nap, Hévíz, 2013. október 11-12.*
- Barna, J., Liptói, K., Patakiné Várkonyi, E., **Váradi, É.**, Sztán, N. (2014): Hazai baromfi *in vitro* génbank kialakítása Gödöllőn. [Development of Hungarian *in vitro* poultry gene bank in Gödöllő] *Proc. 20. Szaporodásbiológiai találkozó, Herceghalom, 2014. 11. 07-08. p. 16.*
- **Váradi, É.**, Drobnyák, Á., Végi, B., Liptói, K., Barna, J. (2015): A mélyhűtött gúnáronló használata a tenyésztői gyakorlatban. *Proc. 21. Szaporodásbiológiai találkozó, Visegrád, 2015. 09. 21-22. p. 16.*